


 INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)
(51) Internationale Patentklassifikation ⁷ :

C12P 41/00, 13/02

A2

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/39324

(43) Internationales

Veröffentlichungsdatum:

6. Juli 2000 (06.07.00)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/10382

(22) Internationales Anmeldedatum: 23. Dezember 1999
(23.12.99)

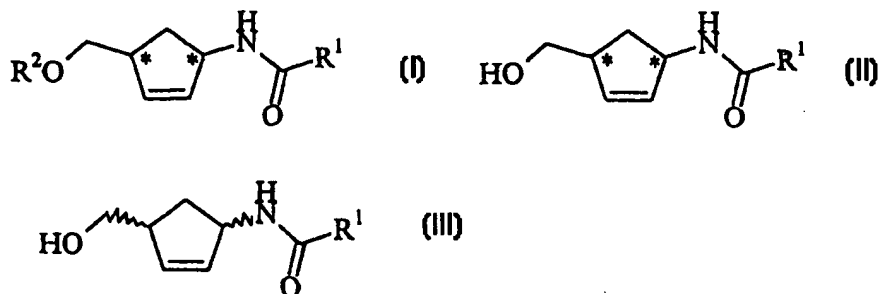
(30) Prioritätsdaten:

 98124570.7 23. Dezember 1998 (23.12.98) EP
 60/145,999 29. Juli 1999 (29.07.99) US
(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): LONZA
AG [CH/CH]; Münchensteinerstrasse 38, CH-4052 Basel
(CH).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BRIEDEN, Walter [DE/CH];
Grundbielstrasse 9, CH-3902 Brig-Glis (CH). ETTER,
Kay-Sara [CH/CH]; Oberdorf, CH-3945 Niedergampel
(CH). PETERSEN, Michael [DE/CH]; Sandstrasse 7,
CH-3930 Visp (CH).(74) Anwälte: RITTHALER, Wolfgang usw.; Winter, Brandl et al.,
Alois-Steinecker-Str. 22, D-85354 Freising (DE).(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,
BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE,
ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP,
KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA,
MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE,
LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches
Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR,
IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF,
CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht

Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.(54) Title: METHOD FOR PRODUCING OPTICALLY ACTIVE 1-AMINO-4-(HYDROXYMETHYL)-CYCLOPENT-2-ENE
DERIVATIVES(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON OPTISCH AKTIVEN 1- AMINO-4- (HYDROXYMETHYL)- CY-
CLOPENT-2- EN-DERIVATEN

(57) Abstract

The invention relates to a new method for producing enantiomer-enriched 1-amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-ene derivatives of the general formulae (I) and (II) in which R¹ is hydrogen or a possibly substituted C₁₋₈ alkyl rest, aryl rest or cycloalkyl rest and R² is a possibly substituted acyl. According to said method a racemic 1-amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-ene derivative of general formula (III), in which R¹ has the meaning given above, is converted using a hydrolase and in the presence of an acylation agent.

(57) Zusammenfassung

Beschrieben wird ein neues Verfahren zur Herstellung von enantiomerenangereicherten 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Derivaten der allgemeinen Formeln (I), (II), worin R¹ Wasserstoff oder einen gegebenenfalls substituierten C₁₋₈-Alkylrest, Arylrest oder Cycloalkylrest bedeutet und R² gegebenenfalls substituiertes Acyl bedeutet, umfassend die Umsetzung eines racemischen 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Derivats der allgemeinen Formel (III), worin R¹ die genannte Bedeutung hat, mittels einer Hydrolase in Gegenwart eines Acylierungsmittels.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

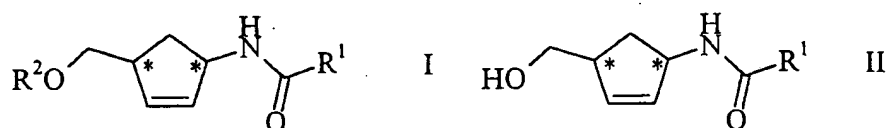
AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Verfahren zur Herstellung von optisch aktiven 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Derivaten

5 Beschreibung

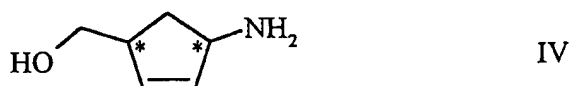
Die vorliegende Erfindung betrifft ein neues Verfahren zur Herstellung von enantiomerenangereicherten 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Derivaten der allgemeinen Formeln

10



worin R^1 Wasserstoff, Alkyl, Aryl oder Cycloalkyl und R^2 Acyl bedeutet, sowie insbesondere deren Weiterumsetzung zu den entsprechenden enantiomerenangereicherten 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Verbindungen der Formel IV.

15



Enantiomerenangereichertes 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en der Formel IV, wie z. B. (1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en, ist ein wichtiges Zwischenprodukt zur Herstellung von carbocyclischen Nukleosiden wie z. B. Carbovir (Campbell et al., J. Org. Chem. 1995, 60, 4602-4616).

20

Unter "enantiomerenangereicherten" Verbindungen werden im folgenden Verbindungen mit einem Enantiomeren-Überschuss (ee) von mehr als 20% verstanden.

25

Bisher sind mehrere Verfahren zur Herstellung von (1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en bekannt. Beispielsweise beschreibt die WO 97/45529 ein biotechnologisches Verfahren zur Herstellung von (1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en

ausgehend von racemischem cis-N-Acetyl-1-amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en mittels Mikroorganismen, welche letzteres als einzige C-, einzige N- oder als einzige C- und N-Quelle verwerten. Nachteilig bei diesem Verfahren ist, dass es in einem Fermenter durchgeführt werden muss.

5

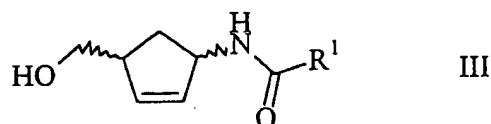
Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es, ein alternatives, einfaches und kostengünstiges Verfahren zur Herstellung von enantiomerenangereicherten 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Derivaten der Formeln I und II und von enantiomerenangereicherten 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Verbindungen der Formel IV zur Verfügung zu stellen.

10

Diese Aufgabe wird mit den Verfahren gemäss den Ansprüchen 1, 5 und 7 gelöst.

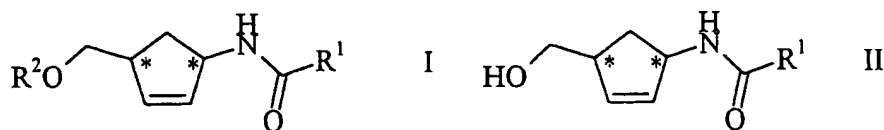
Erfindungsgemäss wird gemäß Anspruch 1 ein racemisches 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Derivat der allgemeinen Formel

15



worin R¹ Wasserstoff oder einen gegebenenfalls substituierten C₁₋₈-Alkylrest, linear oder verzweigt, Arylrest oder Cycloalkylrest bedeutet, mittels einer Hydrolase in Gegenwart eines Acylierungsmittels in die enantiomerenangereicherten 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Derivate der allgemeinen Formeln

20



25

worin R¹ die genannte Bedeutung hat und R² gegebenenfalls substituiertes Acyl bedeutet, überführt.

Die Edukte, die racemischen 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en -Derivate der allgemeinen Formel III, können ausgehend vom (\pm)-2-Azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-on gemäss der WO 97/45529 hergestellt werden. Bevorzugt werden die cis-racemischen Edukte eingesetzt.

5

Der Begriff Alkyl, wie er hier verwendet wird, umfaßt sowohl lineares als auch verzweigtes Alkyl. Alkyl kann substituiert oder unsubstituiert sein. C₁₋₈-Alkyl, steht insbesondere für Methyl, Ethyl, Propyl, Isopropyl, Butyl, tert-Butyl, Pentyl und seine Isomere, Hexyl und seine Isomere, Heptyl und seine Isomere oder Octyl und seine Isomere. Unter substituiertem C₁₋₈-Alkyl ist mit einem oder mehreren Halogenatomen substituiertes C₁₋₈-Alkyl, mit OR³ oder mit NR³R⁴ substituiertes C₁₋₈-Alkyl, worin R³ und R⁴ gleich oder verschieden sind und Wasserstoff oder verzweigtes oder lineares C₁₋₈-Alkyl, Aryl oder Cycloalkyl bedeutet, zu verstehen. Als Halogenatom kann F, Cl, Br oder J eingesetzt werden. Als NR³R⁴ ist beispielhaft Methylamino, N-Methyl-N-ethylamino, 1-Piperidinyll oder Aminomethyl zu nennen. Als OR³ sind beispielhaft Methoxy, Methoxymethyl, Ethoxy, Propoxy und Phenoxy zu nennen.

Unter Aryl wird bevorzugt Benzyl oder Phenyl, substituiert oder unsubstituiert, verstanden. Unter substituiertem Aryl wird im folgenden mit einem oder mehreren Halogenatomen, C₁₋₄-Alkylgruppen, C₁₋₄-Alkoxygruppen, Amino-, Cyan- oder Nitrogruppen substituiertes Aryl verstanden. Als substituiertes Benzyl wird vorzugsweise Chlor- oder Brombenzyl und als substituiertes Phenyl vorzugsweise Brom- oder Chlorphenyl eingesetzt.

Cycloalkyl ist zweckmäßig C₃₋₇-Cycloalkyl, substituiert oder unsubstituiert, beispielsweise Cyclopropyl, Cyclopentyl oder Cyclohexyl. Geeignete Substituenten sind beispielsweise die für Aryl genannten Substituenten.

Acyl entspricht der Säurekomponente des eingesetzten Acylierungsmittels.

Vorzugsweise bedeutet Acyl C₁₋₆-Alkanoyl, unsubstituiert oder substituiert mit einem oder mehreren Halogenatomen, C₁₋₄-Alkoxy, Aryl, Hydroxy, Amino, Cyan Nitro, und/oder COOR, worin R C₁₋₄-Alkyl bedeutet. Beispiele für unsubstituierte oder substituierte

Acylreste sind Acetyl, Propionyl, Butyryl, Chloracetyl, Bromacetyl, Dichloracetyl, Cyanacetyl, Methoxycarbonyl, Ethoxycarbonyl, Methoxyethanoyl, Hydroxybutyryl, Hydroxyhexanoyl, Phenylcarbonyl, Chlorphenylcarbonyl und Benzylcarbonyl.

- 5 Als Acylierungsmittel sind generell Carbonsäurederivate wie Carbonsäureamide, Carbonsäureanhydride oder Carbonsäureester geeignet.

Als Carbonsäureester können Alkoxycarbonsäureester wie Methoxyessigsäureethylester, Methoxyessigsäureisopropylester, C₁₋₆ Carbonsäureester wie Essigsäurebutylester, 10 Buttersäureethylester, Buttersäurephenylester, Buttersäuretrichlorethylester, Hexansäureethylester, Vinylbutyrat, Glycerinester wie Tributyrin (Glycerintributyrat), Glykolester wie Glykoldibutyrat, Diglykolsäurediethylester oder Dicarbonsäureester wie Vinylsuccinat, Cyan-substituierte Ester wie Cyanessigsäureester oder cyclische Carbonsäureester wie Butyrolacton, Caprolacton eingesetzt werden.

15

Als Carbonsäureamide können die den erwähnten Estern entsprechenden Amide eingesetzt werden.

Als Carbonsäureanhydride können einfache, gemischte oder cyclische Anhydride wie 20 Buttersäureanhydrid, Acetylbenzoat und Bernsteinsäureanhydrid eingesetzt werden.

Als Hydrolasen können Lipasen, Esterasen oder Proteasen eingesetzt werden. Als Lipase können handelsübliche Lipasen verwendet werden wie beispielsweise Novo-Lipase SP523 aus *Aspergillus oryzae* (Novozym 398), Novo-Lipase SP524 aus *Aspergillus oryzae* (Lipase = Palatase 20000L von Novo), Novo-Lipase SP525 aus *Candida antarctica* (Lipase B 25 = Palatase 20000L von Novo), Novo-Lipase SP526 aus *Candida antarctica* (Lipase A = Novozym 435, immobilisiert), Novo-Lipase SP526 aus *Candida antarctica* (Lipase A = Novozym 735, immobilisiert), Lipase-kits von Fluka (1 & 2), Amano P Lipase, Lipase aus *Pseudomonas* sp., Lipase aus *Candida cylindracea*, Lipase aus *Candida lipolytica*, Lipase aus *Mucor miehei*, Lipase M aus *Mucor javanicus* (Amano), Lipase aus *Aspergillus niger*, 30 Lipase aus *Bacillus thermocatenuatus*, Lipase aus *Candida antarctica*, Lipase AH (Amano; immobilisiert), Lipase P (Nagase), Lipase AY aus *Candida rugosa*, Lipase G (Amano 50), Lipase F (Amano F-AP15), Lipase PS (Amano), Lipase AH (Amano), Lipase D (Amano),

Lipase AK aus *Pseudomonas fluorescens*, Lipase PS aus *Pseudomonas cepacia*, Newlase I aus *Rhizopus niveus*, Lipase PS-CI (immobilisierte Lipase aus *Pseudomonas cepacia*).

5 Diese Lipasen können, wie fachmännisch bekannt, als zellfreie Enzymextrakte oder auch in der entsprechenden Mikroorganismenzelle angewendet werden.

Als Proteasen sind ebenfalls handelsübliche geeignet, z. B. Serinproteasen wie Subtilisine. Als Subtilisin können z.B. Savinase aus *Bacillus* sp., Alcalase, Subtilisin aus *Bacillus licheniformis* sowie Proteasen aus *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Streptomyces* oder *Bacillus* sp.
10 verwendet werden.

Abhängig von der Wahl der Hydrolase wird in einem racemischen, beispielsweise cis-racemischen, 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en der Formel III eines der beiden Enantiomeren acyliert (Verbindungen der Formel I), während das andere Enantiomer
15 unverändert bleibt (Verbindungen der Formel II). Die beiden Enantiomeren können dann getrennt werden.

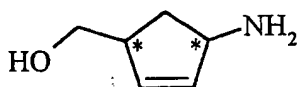
Unterschiedliche Hydrolasen können unterschiedliche Stereospezifitäten besitzen. Wird beispielsweise cis-N-Acetyl-1-amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en mit Lipase M und
20 einem Acylierungsmittel umgesetzt, so wird spezifisch das (1R, 4S)-Enantiomer acyliert, das vom nicht-acylierten (1S, 4R)-Enantiomer abgetrennt werden kann. Wird als Hydrolase beispielsweise Savinase (Protease aus *Bacillus* sp.) verwendet, so wird spezifisch das (1S, 4R)-Enantiomer acyliert, während das (1R, 4S)-Enantiomer zurückbleibt.

25 Zweckmässig wird die Hydrolase-katalysierte Acylierung bei einer Temperatur von 0 bis 70 °C, vorzugsweise bei einer Temperatur von 15 bis 45 °C durchgeführt.

Die Hydrolase-katalysierte Acylierung kann in einem protischen oder aprotischen organischen Lösungsmittel durchgeführt werden. Als aprotische organische Lösungsmittel
30 sind Ether, aliphatische Kohlenwasserstoffe, organische Basen und Carbonsäurederivate geeignet. Als Ether können tert-Butylmethylether, Diisopropylether, Dibutylether, Dioxan oder Tetrahydrofuran eingesetzt werden. Als aliphatische Kohlenwasserstoffe sind Hexan,

Heptan, Octan geeignet. Als organische Basen sind Pyridine oder Trialkylamine wie Triethylamin geeignet. Als Carbonsäurederivate sind bspw. Ethylacetat oder die zuvor beschriebenen Acylierungsmittel möglich.

- 5 Die bei der Hydrolase-katalysierten Acylierung gebildeten enantiomerenangereicherten 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Derivate der allgemeinen Formel I oder II können nach Trennung chemisch direkt zu den entsprechenden enantiomerenangereicherten 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Isomeren der Formel IV



IV

10

- hydrolysiert werden. Alternativ kann das abgetrennte enantiomerenangereicherte 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Derivats der allgemeinen Formel I durch geeignete Wahl der Hydrolysebedingungen stufenweise zunächst wieder zum entsprechenden enantiomerenangereicherten 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Derivat der allgemeinen Formel II hydrolysiert werden, welches dann, falls gewünscht, durch weitere chemische Hydrolyse wie oben zum entsprechenden enantiomerenangereicherten 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en der Formel IV umgesetzt wird.

- 20 Zweckmässig wird die chemische Hydrolyse mit einem Alkalimetallhydroxid oder mit Ammoniak durchgeführt. Als Alkalimetallhydroxid kann Natrium- oder Kaliumhydroxid eingesetzt werden.

- Die chemische Hydrolyse kann bei einer Temperatur von 20 bis 100 °C, vorzugsweise bei einer Temperatur von 60 bis 80 °C, durchgeführt werden.

- Bevorzugtes enantiomerenangereichertes 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Derivat der allgemeinen Formel I ist das (1R,4S)- und (1S,4R)-N-Acetyl-1-amino-4-(propylcarbonyloxymethyl)-cyclopent-2-en ($R^1 = \text{CH}_3$, $R^2 = \text{Propylcarbonyl}$), bevorzugtes 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Derivate der allgemeinen Formel II ist das (1R,4S)- und (1S,4R)-N-Acetyl-1-amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en, welche dann

30

chemisch bevorzugt in das (1R,4S)- bzw. (1S,4R)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en hydrolysiert werden.

5

Beispiele

Beispiel 1

50 mg cis-N-Acetyl-1-amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en und 250 µl Vinylbutyrat wurden in 5 ml 2-Methyl-2-butanol gelöst. 300 mg Lipase M (aus *Mucor javanicus*; Amano) wurden hinzugegeben und die Suspension bei Raumtemperatur gerührt. Nach 16 h lag (1S, 4R)-N-Acetyl-1-amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en mit einem Enantiomerenüberschuss von 98,5% (GC) vor.

Nach Trennung von (1S, 4R)-N-Acetyl-1-amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en und gebildetem (1R, 4S)-N-Acetyl-1-amino-4-(propylcarbonyloxymethyl)-cyclopent-2-en (Chromatographie an Kieselgel 60) wurden beide Verbindungen getrennt in 2M Natronlauge aufgenommen. (1S, 4R)-N-Acetyl-1-amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en wurde durch Rühren bei 80 °C (70 h) in das enantiomerenreine bzw. -angereicherte cis-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en überführt, während (1R, 4S)-N-Acetyl-1-amino-4-(propylcarbonyloxymethyl)-cyclopent-2-en durch Rühren bei Raumtemperatur (5 h) in das enantiomerenreine bzw. -angereicherte cis-N-Acetyl-1-amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en überführt wurde.

Beispiel 2

10 mg cis-N-Acetyl-1-amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en und 50 µl Vinylbutyrat wurden in 1 ml Dioxan gelöst. 30 mg Lipase M (aus *Mucor javanicus*; Amano) wurden hinzugegeben und die Suspension bei Raumtemperatur gerührt. Nach 20 h lag (1S, 4R)-N-Acetyl-1-amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en mit einem Enantiomerenüberschuss von 91,0% (GC) vor.

Beispiel 3

10 mg cis-N-Acetyl-1-amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en und 50 µl Vinylbutyrat wurden in 1 ml 2-Methyl-2-butanol gelöst. 40 mg Savinase (Protease aus *Bacillus* sp.; Novo Nordisk) wurden hinzugegeben und die Suspension bei Raumtemperatur gerührt. Nach 20 h lag (1R, 4S)-N-Acetyl-1-amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en mit einem Enantiomerenüberschuss von 91,7% (GC) vor.

Beispiel 4

10 mg cis-N-Acetyl-1-amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en und 50 µl Vinylbutyrat wurden in 1 ml Dioxan gelöst. 40 mg Savinase (Protease aus *Bacillus* sp.; Novo Nordisk) wurden hinzugegeben und die Suspension bei Raumtemperatur gerührt. Nach 200 h lag (1R, 4S)-N-Acetyl-1-amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en mit einem Enantiomerenüberschuss von 81,7% (GC) vor.

Beispiel 5

100 mg cis-N-Acetyl-1-amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en und 0.5 mmol Vinylbutyrat wurden in 1 ml 2-Methyl-2-butanol gelöst. 20 mg Lipase PS (aus *Pseudomonas cepacia*) wurden hinzugegeben und die Suspension bei Raumtemperatur gerührt. Nach 21 h liegt (1R, 4S)-N-Acetyl-1-amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en mit einem Enantiomerenüberschuss von 44% (GC) vor.

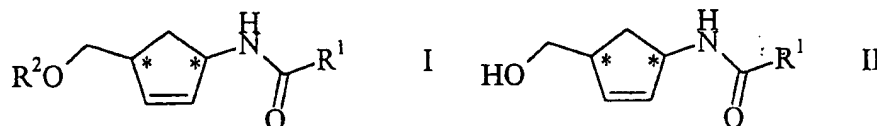
Beispiel 6

10 mg cis-N-Acetyl-1-amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en und 0.03 mmol Tributyrin wurden in 1 ml 2-Methyl-2-butanol gelöst. 20 mg Lipase PS (*Pseudomonas cepacia*) wurden hinzugegeben und die Suspension bei Raumtemperatur gerührt. Nach 200 h liegt (1R, 4S)-N-Acetyl-1-amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en mit einem Enantiomerenüberschuss von 32% (GC) vor.

Patentansprüche

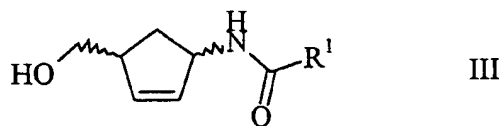
1. Verfahren zur Herstellung von enantiomerenangereicherten 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Derivaten der allgemeinen Formeln

5



10

worin R^1 Wasserstoff oder einen gegebenenfalls substituierten C_{1-8} -Alkylrest, Arylrest oder Cycloalkylrest bedeutet und R^2 gegebenenfalls substituiertes Acyl, bedeutet, umfassend die Umsetzung eines racemischen 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Derivats der allgemeinen Formel



15

worin R^1 die genannte Bedeutung hat, mittels einer Hydrolase in Gegenwart eines Acylierungsmittels.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass als Hydrolase eine Protease, Esterase oder Lipase eingesetzt wird.

20

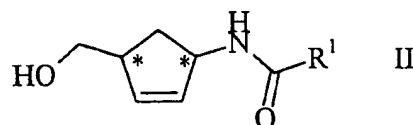
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Hydrolase-katalysierte Acylierung bei einer Temperatur von 0 bis 70 °C durchgeführt wird.

25

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Hydrolase-katalysierte Acylierung in einem protischen oder aprotischen organischen Lösungsmittel durchgeführt wird.

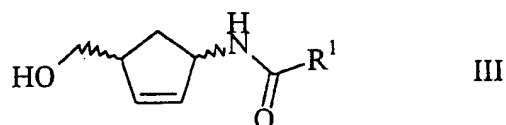
10

5. Verfahren zur Herstellung von enantiomerenangereicherten 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Derivaten der allgemeinen Formel



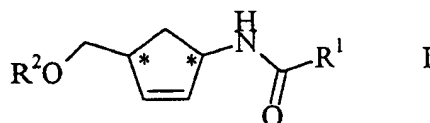
5

dadurch gekennzeichnet, dass man ein racemisches 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Derivat der allgemeinen Formel



10

worin R¹ die in Anspruch 1 genannte Bedeutung hat, mittels einer Hydrolase in Gegenwart eines Acylierungsmittels in enantiomerenangereicherte 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Derivate der allgemeinen Formel I



15

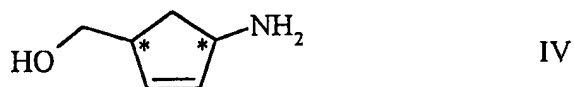
worin R¹ und R² die in Anspruch 1 genannte Bedeutung haben, überführt und diese dann chemisch zu den entsprechenden Enantiomeren der allgemeinen Formel II hydrolysiert.

20

6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass die chemische Hydrolyse bei einer Temperatur von 20 bis 100 °C durchgeführt wird.

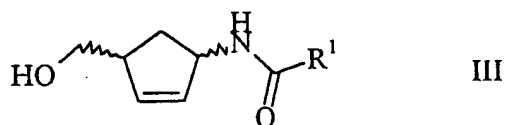
11

7. Verfahren zur Herstellung von enantiomerenangereichertem 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en der Formel



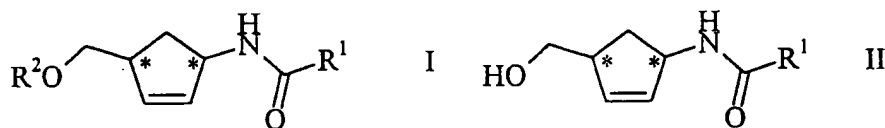
5

dadurch gekennzeichnet, dass man ein racemisches 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Derivat der allgemeinen Formel



10

worin R^1 die in Anspruch 1 genannte Bedeutung hat, mittels einer Hydrolase in Gegenwart eines Acylierungsmittels in enantiomerenangereicherte 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Derivate der allgemeinen Formel



15

worin R^1 und R^2 die in Anspruch 1 genannte Bedeutung haben, überführt und diese dann chemisch zu den entsprechenden enantiomerenangereicherten 1-Amino-4-(hydroxymethyl)-cyclopent-2-en-Isomeren der Formel IV hydrolysiert.